第 27 卷 第 1 期　　昆 虫 学 报　　Vol. 27, No. 1
1984 年 2 月　　ACTA ENTOMOLOGICA SINICA　　Feb., 1984

蜕皮激素对家蚕后部丝腺谷氨酸-丙酮酸转氨酶活力的影响

李 瑞　戴玉锦　朱 江　张裕清
(苏州蚕桑专科学校)

摘要　本文报道了 β-蜕皮激素(简称 MH)对家蚕后丝腺谷氨酸-丙酮酸转氨酶(简称 GPT)活力以及产丝量的影响。对五龄不同时期一次添食 MH 和每日连续添食 MH 以及 MH 剂量变化的研究结果表明:无论何种处理,MH 都能促进 GPT 的活力;但不同的处理,其效果不一样。其中以五龄前期添食 MH 和五龄每日低剂量(夏蚕每头0.5微克和春蚕每头 2 微克)连续添食的处理,效果最佳;不但能促进 GPT 的活力,而且能提高丝蛋白合成能力。此外,还发现添食 MH 的浓度与 GPT 活力并不相关;MH 对 GPT 活力的影响,因蚕品种而有差异,春蚕多丝量品种较夏蚕少丝量品种效果显著;MH 低剂量多次添食比高剂量一次添食可避免产生不良后果。

关键词　家蚕　后丝腺　β-蜕皮激素　谷氨酸-丙酮酸转氨酶

家蚕丝腺的生长受到内分泌的支配:在咽侧体分泌保幼激素诱导幼虫蜕皮的体内条件下,丝腺的发育受到限制,只有前胸腺分泌的蜕皮激素(简称 MH)加强作用的情况下,丝腺的生长及丝胶蛋白和丝蛋白的合成才急速增加[1]。所以蚕丝物质的大量合成与 MH 的分泌作用有关。从蚕体生理来说,五龄第二日以前所食桑叶主要造成蚕体的生长,第三日起丝腺才开始肥大成长。与此相符合,MH 分泌量也在此时不断增多,至营茧时达最高峰。在一般情况下,MH 分泌量少,龄期延长,成熟慢,丝腺的发育也迟。但是,据广东农林学院蚕桑系 1975 年报道和许廷森等 1979 年的工作认为:"五龄中期喷布保幼激素类似物促进后部丝腺谷氨酸-丙酮酸转氨酶(简称 GPT)的活力提高,是增产茧丝的生理原因之一"[2][3]。根据他们的报道,丝物质的大量合成似与保幼激素的分泌作用有关。为了进一步了解内分泌与丝腺生长和丝物质合成之间的内在联系,我们于 1981 年夏蚕期和 1983 年春蚕期研究了外源MH对五龄后部丝腺 GPT 活力和产丝量的影响。

桑叶是家蚕蛋白质和氨基酸的来源。桑叶蛋白质及游离氨基酸中,谷氨酸的含量占 11%,丙氨酸占 5%;经家蚕摄食,消化吸收后,家蚕血液的游离氨基酸中谷氨酸量仍占 13% 左右。但是丝蛋白的氨基酸组成中谷氨酸则极少,而丙氨酸含量增至 25%。这说明在家蚕后部丝腺的 GPT 作用下,桑叶中高含量的谷氨酸与体内的丙酮酸作用,生成丙氨酸,为丝物质的合成提供充足的原料。因此,本试验选择家蚕后部丝腺的 GPT,作为研究植源性 MH 对丝蛋白合成影响的材料。

材 料 与 方 法

一、材料与设区

本文于 1982 年 4 月收到。
本校金琇珏同志,四川省蚕桑学校李才蓉同志参加 1981 年部分试验,李明芝、唐小虎等同学参加 1983 年试验的丝腺解剖工作,特此致谢。

1.1981 年夏蚕品种苏$_{12}$×东$_{34}$，1983 年春蚕品种苏$_5$×苏$_6$。

2.蜕皮激素由浙江省海宁县农药厂生产的β-蜕皮激素(20 羟蜕皮甾酮)。

3.从家蚕五龄饷食开始，每天连续添食 MH，剂量分别为每头 0.5 微克、2.0 微克、4.0 微克；另外，五龄分前期(24 小时)和中期(春蚕 96 小时，夏蚕 72 小时)一次添食，剂量为每头 2.0 微克、4.0 微克。另设对照区。添食 MH 后每隔 24 小时解剖取出后部丝腺，以供测定 GPT 活力。此外，还进行丝量的调查。

二、GPT 活力的测定

在 GPT 作用下，L-谷氨酸与丙酮酸钠作用，形成丙氨酸钠及α-酮戊二酸。反应完成后，残余的丙酮酸钠与二硝基苯肼作用，生成二硝基苯腙，在碱性条件下呈棕色。用分光光度计，在 520 毫微米处进行比色测定。测定步骤为：

1.匀浆制备 取出10头(雌雄蚕头数相等)家蚕的后部丝腺，加冰冷的 1/15M 的磷酸缓冲液(pH7.4)15 毫升，在冰浴中匀浆，然后用日立 20PR—52D 高速冷冻离心机，在 2℃条件下，8000 转/分钟(6000xG)离心 10 分钟，收集上清液测酶活力。

2.酶活力测定 试管 4 支(分别作 2 支测定管、2 支对照管)，编号，按表 1 进行实验：

表 1 测定酶活力的试剂用量(毫克)

	测定管 (D_1)	对照管 (D_2)
1/15M 磷酸缓冲液 (pH7.4)	1	1
0.004M 丙酮酸钠溶液	0.5	0.5
0.005M L-谷氨酸溶液	0.5	0.5
酶液	0.5	—
30%三氯醋酸溶液	—	0.5
	在 38℃±1℃ 条件下温育 10 分钟	
30%三氯醋酸溶液	0.5	—
酶液	—	0.5
0.02%2,4-二硝基苯肼	0.5	0.5
0.4N NaOH 溶液	6.5	6.5

上述操作毕，混匀，立即在日立 200—20 紫外分光光度计 520 毫微米波长处进行比色测定，以蒸馏水校正零点。读取各管光密度值。

本试验以每头后部丝腺在 38℃ ± 1℃ 温育 10 分钟所作用掉的丙酮酸钠微克当量数作为酶活力计算单位。计算方法：

a. $丙酮酸钠微克当量/0.5毫升=\frac{D_2-D_1}{D_2}\times 2$

b. $GPT\ 活力单位=\frac{丙酮酸钠微克当量\times 酶液总体积}{0.5\times 供试蚕头数}$

试 验 结 果

一、五龄期添食 MH 后，家蚕后部丝腺 GPT 活力的变化

1.五龄后部丝腺 GPT 总活力比较

在五龄期添食 MH，不论给予的时期或剂量不同，后部丝腺GPT总活力一般都比对照高(见表2)。其中，春蚕添食的效果较夏蚕明显，春蚕各处理区GPT总活力比对照高5—13%。夏蚕约高于对照区。五龄一次添食以前期2微克区和中期4微克区GPT活力最显著。五龄每日添食MH，不管是春蚕还是夏蚕均以2微克处理区效果最优。试验表明，五龄期添食MH对后部丝腺GPT活力有一定的促进作用。但酶活力的高低与MH添食的时期和剂量有关。

表2　五龄期添食 MH 对后部丝腺 GPT 总活力的影响(单位：丙酮酸微克当量/头蚕)

蚕品种 \ MH浓度(微克/头) \ 处理时期		五龄前期		五龄中期		五龄连续处理			对照区
		2	4	2	4	0.5	2	4	
苏$_{12}$×东$_{34}$	实　数	17.337	16.566	16.557	16.757	16.565	17.177	16.817	16.549
	指　数	104.8	100.1	100.1	101.3	100.1	103.8	101.6	100.0
	平均值	2.477	2.366	2.365	2.393	2.366	2.454	2.402	2.364
苏$_5$×苏$_6$	实　数	28.883	27.320	27.114	27.468	28.326	29.106	26.958	25.682
	指　数	112.5	106.4	105.6	107.0	110.3	113.3	105.0	100.0
	平均值	3.610	3.415	3.389	3.434	3.541	3.638	3.370	3.210

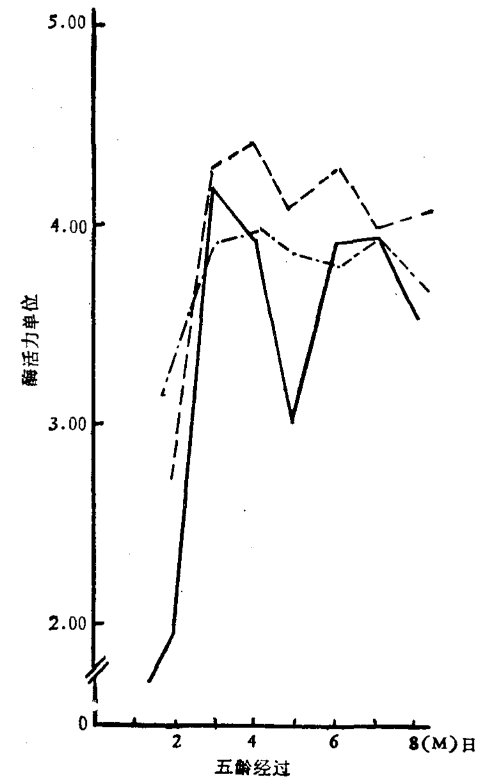
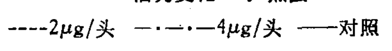


图1　苏$_5$×苏$_6$五龄前期添食MH，其后部丝腺GPT 活力变化 M：熟蚕



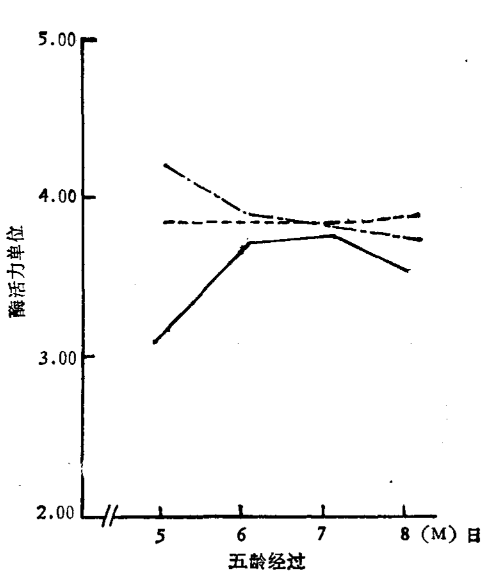


图2　苏$_5$×苏$_6$五龄中期添食 MH，其后部丝腺GPT 活力变化 M：熟蚕

----2μg/头　—·—·—4μg/头　——对照

2. 五龄蚕后部丝腺 GPT 活力的逐日变化

本试验观察到：在正常情况下五龄饷食时其后部丝腺GPT 活力很低，春蚕为 0.27 单位，夏蚕 0.25 单位。食桑后却急速上升，春蚕五龄第三日(72 小时)达最高峰，而家蚕在五龄第四日最高，以后渐趋下降，熟蚕前后一日又稍增加。五龄期 MH 一次处理区，无论是前期添食还是中期添食，其处理后的第二日 GPT 活力明显高于对照(夏蚕五龄中期 4 微克区约低于对照)，增加比率达 21—50%。以后春蚕仍保持其优势，而夏蚕变化不大(见图 1、2、3、4)。

五龄期 MH 每日连续处理区中，以春蚕处理区效果最佳，其GPT每日活力绝大部分比对照高。其中 2 微克区在五龄第三日酶活力比对照高 11% 左右，0.5 微克区在第八日比对照高达 21% 左右。春蚕每头 0.5 微克区 GPT 活力的二个高峰分别处于五龄第四日和第八日，而每头 2 微克区和 4 微克区 GPT 活力第一个高峰在五龄第三日，第二高峰 2 微克区比 4 微克区迟一天，在五龄第七日(见图 5)。夏蚕处理区后部丝腺 GPT 活力与对照相比变化不大，只是每头 2 微克区在五龄第五日后才明显高于对照(见图 6)。

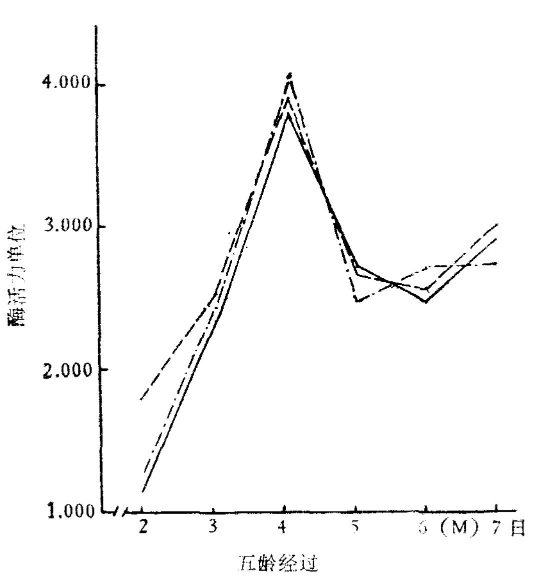


图 3 苏₁₂×东₃₄五龄前期添食 MH 其后部丝腺 GPT 活力变化 M：熟蚕
----2μg/头 —·—·—4μg/头 ——对照

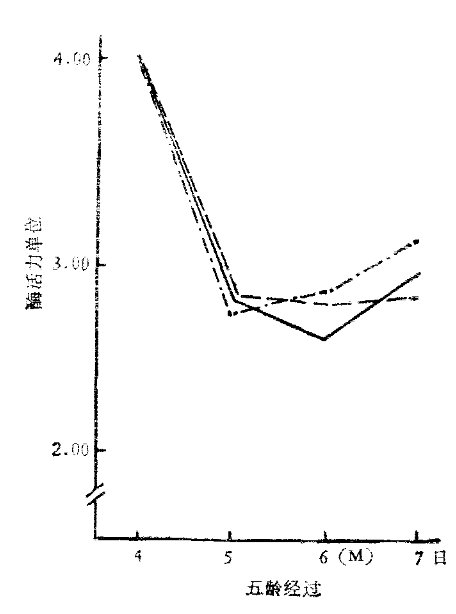


图 4 苏₁₂×东₃₄五龄中期添食 MH 其后部丝腺 GPT 活力变化 M：熟蚕
----2μg/头 —·—·—4μg/头 ——对照

二、GPT 活力与丝蛋白合成的关系

从表 2 可以看出，家蚕五龄期添食MH对后部丝腺 GPT 活力有促进作用。但是，根据产丝量(茧层量)变化的结果又发现，GPT 活力与丝蛋白合成的关系因 MH 添食的时间和剂量而发生变化。实验结果表明，五龄前期一次处理和五龄低剂量(夏蚕 0.5 微克，春蚕 2.0 微克)连续处理有增丝的倾向。其他处理区 GPT 活力虽高于对照，可丝量比对照低(见表 3)。可见，后部丝腺 GPT 活力的增强不完全导致丝量的增加，丝量的高低亦与食桑时间和龄期经过有关。中期添食有缩短龄期的倾向。

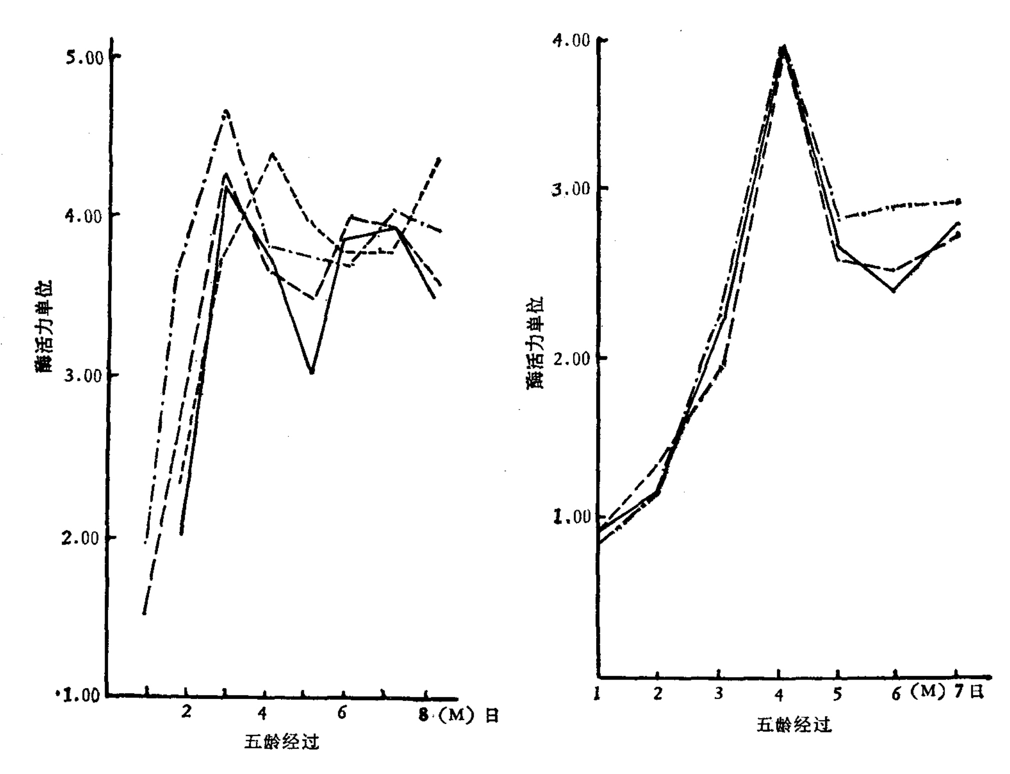


图 5　苏$_5$×苏$_6$五龄每日添食 MH 其后部丝腺 GPT 活力变化 M：熟蚕

-----0.5μg/头 ---4μg/头 —·—·—2μg/头——对照

图 6　苏$_{12}$×东$_{34}$五龄每日添食 MH 其后部丝腺 GPT 活力变化 M：熟蚕

-----0.5μg/头 —·—·—2μg/头 ——对照

表 3　五龄添食 MH 对丝量(茧层量)的影响

蚕品种 \ 浓度(μg/g) \ 时期		五龄前期添食		五龄中期添食		五龄每日添食			对照区
		2	4	2	4	0.5	2	4	
苏$_{12}$×东$_{34}$	实数(g/颗)	0.320	0.320	0.305	0.317	0.339	0.299	0.285	0.315
	指数	101.6	101.6	96.8	100.6	107.6	94.9	90.5	100
苏$_5$×苏$_6$	实数(g/颗)	0.553	0.577	0.538	0.552	0.546	0.571	0.531	0.564
	指数	98.0	102.3	95.4	97.9	96.8	101.2	94.1	100

讨　　论

1. 在五龄期凡经 MH 处理，后部丝腺 GPT 活力均普遍较对照高，这表明 MH 对 GPT 活力有促进作用。但是 GPT 活力的提高是否意味着产丝量增加？从实验结果看，GPT 活力的高低与丝蛋白合成能力并非成正相关。这与广东农林学院蚕桑系等报道的 GPT 活力的提高是增产茧丝的生理原因的观点不相一致。我们认为，丝蛋白的合成也同一般蛋

白质的生物合成一样，是极其复杂的生化过程，除与合成原料氨基酸的供应有关外，还受到核酸、蛋白因子及其他酶类等许多因素的影响。因此，MH虽然能对 GPT 活力有促进作用，可是对合成丝蛋白的其他因素是否也有促进作用？这个问题值得今后探讨。

2. 家蚕后部丝腺 GPT 活力因蚕品种、发育时期等因素而有差异。试验以每头蚕后部丝腺消耗丙酮酸钠微克当量数为酶活力计算单位，那么，春蚕多丝量品种苏$_5$ × 苏$_6$的 GPT 活力比夏蚕少丝量品种苏$_{12}$ × 东$_{34}$ 高得多。如果，以单位丝腺重量（100 毫克）消耗丙酮酸钠的量为计算单位，则夏蚕高于春蚕。说明苏$_{12}$ × 东$_{34}$品种在单位丝腺重量里酶的量是比较高的。另外，根据我们对丝腺生长的调查，家蚕后部丝腺的重量以熟蚕前一日为最重，但 GPT 活力却以五龄中期最高。由此进一步认为，后部丝腺重量的增加并不完全等于酶量的增多或酶活力的提高。

3. 后部丝腺 GPT 活力变化规律与蚕体内 MH 的分泌相一致，五龄第三、四日是保幼激素与 MH 发生转变的时候，此时保幼激素作用极弱，MH 的分泌正处于激增阶段，与此同时后部丝腺 GPT 活力也处在高峰期。以后 MH 分泌量递增幅度较小，熟蚕时 MH 积累量达最高，GPT 活力也有回升。在五龄前期接受外源 MH，可能削弱了保幼激素的作用，于是体现出酶活力的增高和丝量的增加。 从这生理变化可以说明 GPT 活力的变化规律与激素间的颉颃作用有关。

4. 本试验对 MH 不同浓度的探索，初步看出了在本试验范围浓度的大小与 GPT 活力的高低不成比例关系。在所使用的剂量内，GPT 活力是五龄前期一次添食 2 微克比 4 微克显著，五龄中期以 4 微克为优。五龄连续添食 2 微克区最高，4 微克虽比 0.5 微克浓度大 8 倍，但 GPT 活力基本相同。国外曾报道，五龄期 MH 过量处理（每头 20 微克一次性处理），就会出现六龄蚕。以本试验每头 4 微克连续处理的累积量，则大大超于一般使用剂量，然而，试验结果未发现由此而引起的反常现象。这是因为外源MH进入蚕体后，一部分成为脂类物质存在于体液中，另一部分成为盐类排出体外。所以，即使每头蚕接受的总剂量很高，由于进行多次添食，累积于各体内的量不足以造成不良后果。 可见，在同样剂量范围内，多次添食比一次添食安全得多。

5. 目前生产上 MH 的使用主要在见熟5%左右时进行添食，能起到促使蚕儿成熟齐一的作用。本试验通过不同时期的MH添食，发现五龄前期添食有增加产丝量的倾向，而中期添食产丝量减少。这一结果与国内外报道相吻合[4]。 此外，本试验还看到五龄每日低剂量（夏蚕 0.5 微克、春蚕 2 微克）也能增加丝量，这为生产上使用 MH 又提供了一种可行的方法。

参 考 文 献

赤井弘 (1980) アラタ体摘出蚕の後部絹糸腺細胞の超微形態の変化。蚕糸試験場報告 **28**(1): 1—7。
广东农林学院蚕桑系 1975 昆虫保幼激素类似物对家蚕后部丝腺谷氨酸-丙酮酸转氨酶活性的影响。昆虫学报**18**(4): 363—6。
许廷森等 1979 保幼激素类似物对家蚕氨基酸代谢一些酶的影响。蚕业科学 **5**(4): 232—6。
中国农林科学院蚕桑科技服务组等 1977 应用植源性蜕皮激素调节蚕儿生长发育和增产蚕丝的研究。 昆虫学报 **20**(2): 147—54。

EFFECT OF ECDYSONE ON GLUTAMIC ACID-PYRUVIC ACID TRANSAMINASE IN THE POSTERIOR PORTION OF SILK GLAND IN *BOMBYX MORI*

Li Rui　Dai Yu-jin　Zhu Jiang　Zhang Yu-qing
(*Suzhou Institute of Sericulture*)

The effect of oral administration of β-ecdysone (MH) on the activity of glutamic acid pyruvic acid-transaminase (GPT) in the posterior portion of the silk gland and the silk production of *Bombyx mori* has been studied. Experiments on single and continuous administration of MH at different stages of the fifth instar larvae as well as by varying the MH dosage showed that all the treatments could promote the activity of the transaminase but the results were different in different cases. Good results have been obtained by oral administration of MH at the early stage of the fifth instar larvae and daily continuous administration with lower dosage (0.5 μg/larva for summer silkworm and 2.0 μg/larva for spring silkworm) would lead to the best result where the tranaminase activity was enhanced and silk production increased. But the GPT activity is not positively correlated with the concentration of the administrated MH. The influence on GPT activity by MH varies with the strains of silkworm and it is more conspicuous in the spring strain with higher silk production than in the summer strain with lesser silk production. Continuous administration of MH in lower dosage can avoid hazard better than with a single administration in higher dosage.

Key words　*Bombyx mori*—posterior silk gland—β-ecdysone—glutamic acid-pyruvic acid transaminase.